

# PATENT ABSTRACTS OF JAPAN

(11) Publication number : 09-235235

(43) Date of publication of application : 09.09.1997

(51) Int.CI.

A61K 33/44  
A61K 33/44  
A61K 9/00  
A61K 47/32

(21) Application number : 08-084449

(71) Applicant : RES INST FOR PROD DEV

(22) Date of filing : 29.02.1996

(72) Inventor : IKADA YOSHITO  
TABATA YASUHIKO  
NAKAJIMA NAOKI

(54) FULLERENE-BINDING WATER-SOLUBLE POLYMER PHOTOSENSITIZER FOR PHOTODYNAMIC THERAPY

(57) Abstract:

PROBLEM TO BE SOLVED: To obtain a photosensitizer for the photodynamic therapy by chemically modifying fullerene with a water-soluble polymer.

SOLUTION: Fullerene is made soluble in water and given the cancer tissue- targeting properties after its intravenous administration. The difference in disappearance pattern of accumulated fullerenes from the tissues is cleverly utilized to increase the concentration difference between the normal tissues and the cancer tissues and the photodynamic therapy effect that only cancer tissues can be broken by radiation with light is recognized. Thus, the fullerene-water- soluble polymer binder can be expected to be used as a photosensitizer for the photodynamic therapy.

## LEGAL STATUS

[Date of request for examination] 17.02.2003

[Date of sending the examiner's decision of rejection]

[Kind of final disposal of application other than the examiner's decision of rejection or application converted registration]

[Date of final disposal for application]

[Patent number]

[Date of registration]

[Number of appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of requesting appeal against examiner's  
decision of rejection]

[Date of extinction of right]

Copyright (C); 1998,2003 Japan Patent Office

(19)日本国特許庁 (JP)

(12) 公開特許公報 (A)

(11)特許出願公開番号

特開平9-235235

(43)公開日 平成9年(1997)9月9日

(51)Int.Cl. <sup>6</sup>	識別記号	府内整理番号	F I	技術表示箇所
A 61 K 33/44	AGZ		A 61 K 33/44	AGZ
	AGA			AGA
9/00			9/00	F
47/32			47/32	B

審査請求 未請求 請求項の数3 書面 (全6頁)

(21)出願番号 特願平8-84449	(71)出願人 財団法人生産開発科学研究所 京都府京都市左京区下鴨森本町15番地
(22)出願日 平成8年(1996)2月29日	(72)発明者 筏 義人 京都府宇治市五ヶ庄広岡谷2-182 (72)発明者 田畑 泰彦 京都府宇治市琵琶台3-8-16 (72)発明者 中島 直喜 京都府向日市寺戸町西野辺23-51

(54)【発明の名称】光線力学的治療用フラーレン-水溶性高分子結合体光増感剤

(57)【要約】(修正有)

【解決手段】フラーレンを水溶性高分子によって化学修飾した光線力学的治療用光増感剤。

【効果】上記の方法によってフラーレンの水可溶化、ならびに静脈投与後にフラーレンに癌組織へのターゲティング性を付与させることができた。集積されたフラーレンの組織からの消失パターンの違いをうまく利用することにより、癌組織と正常組織とのフラーレンの濃度差を高めることができ、光照射により癌組織のみを破壊する有効な癌の光線力学的治療効果が認められた。上記のフラーレン-水溶性高分子結合体は癌の光線力学的治療用光増感剤としての用途が期待できる。

## 【特許請求の範囲】

【請求項1】 フラーレンを水溶性高分子によって化学修飾した光線力学的治療用光増感剤。

【請求項2】 用いる水溶性高分子がポリエチレンジリコールである請求項1に記載の光線力学的治療用増感剤。

【請求項3】 用いるフラーレンがC<sub>60</sub>である請求項1に記載の光線力学的治療用増感剤。

## 【発明の詳細な説明】

## 【0001】

【産業上の利用分野】 本発明は、フラーレンに水溶性高分子を結合した光線力学的治療用光増感剤に関する。

## 【0002】

【従来の技術】 癌組織に集積した光増感剤は光照射によって反応性に富んだ一重項酸素を生成し、光照射された周辺の癌組織のみを選択的に破壊する。このように、光増感剤と光照射とを組み合わせた癌治療を癌の光線力学的治療という。この光線力学的治療用光増感剤として多くの化合物が検討されているが、癌への集積性の高いことからボルフィリン誘導体が広く用いられている（例えば、癌と化学療法、特集光線力学的治療法、23巻1号、1996年など）。この光線力学的治療の有効性を高めるためには、光増感剤が癌組織へよく集積することと、集積した光増感剤が光照射によって一重項酸素のような活性酸素を効率よく発生することが重要である。

【0003】 フラーレンは可視光の照射により一重項酸素などの活性酸素を効率よく発生する（J. W. Arbogast, A. P. Darmanyan, C. S. Foote, Y. Rubin, F. N. Diederich, M. M. Alvares, S. J. Anz, and R. L. Whetten, J. Phys. Chem., 95, 11 (1991)）。さらに、その活性酸素は細胞を強く殺傷することが報告されている（H. Tokuyama, S. Yamago, and E. Nakamura, J. Am. Chem. Soc., 115, 7918 (1993)）。そこで、もしフラーレンを癌組織へうまく集積させることができれば、その部位への光照射によって癌組織のみが障害され、光線力学的治療用光増感剤としてフラーレンはうまく機能するはずである。しかしながら、フラーレンをこの目的に使用するためには、以下の2つの点を解決しなければならない。その第1点はフラーレン自身が水に不溶であるために体内への投与が困難なこと、第2点はフラーレン自身の癌組織への集積を全く期待できないことである。

【0004】 第1の問題点に関しては、化学修飾によってフラーレンを水可溶化とする試みが以前から行われている（例えば、S. H. Friedman, D. L. DeCamp, R. P. Sijbesma, G. Sradanov, F. Wudl, and G. L. Kenyon, J. Am. Chem. Soc., 115, 6506 (1993)など）。しかし、これらの報告は単にフ

ーレンの溶解性の改善を目指したものである。また、水可溶性フラーレンの細胞毒性についての報告（H. Tokuyama, S. Yamago, E. Nakamura, T. Shiraki, Y. Sugiura, J. Am. Chem. Soc., 115, 7918 (1993)、C. Tonolo, A. Bianco, M. Maggini, G. Scorrano, M. Pratolo, M. Marastoni, R. Tomatis, S. Spisani, G. Palu, and E. D. Blair, J. Med. Chem., 37, 4558 (1994)、N. Nakajima, C. Nishi, F. -M. Li, and Y. Ikada, Fullerene Science and Technology, 4 (1996) 印刷中）もあるが、これらの報告は単に水溶性フラーレン誘導体の細胞毒性について言及したものであり、フラーレンを光線力学的治療のための光増感剤として利用しようという論文ではない。

【0005】 2点めの癌への集積性に関しては、フラーレンの単なる水可溶化のみでは解決できない。一般に、生体内に投与された薬物は、その中の活性を保持したまま標的的作用部位に到達した薬物のみが治療効果を示し、残りは無効となるか、場合によっては不必要的部位に作用して逆に副作用の原因となる。従って、薬物をその標的部位へ選択的に作用させることが、薬物療法を有効に行うための必須条件である。薬物が生体内において標的部位を指向することを標的指向化（ターゲティング）という。これは、すべての薬物において基本となる考え方であり、癌の光線力学的治療においても、このターゲティングは重要である。癌組織周辺のみを光照射すること、ならびに一重項酸素がその寿命の期間内に移動できる距離が0.1 μm程度と短いことなどを考えると、癌組織以外の組織あるいは臓器に対する障害性は低いと考えられるが、癌組織以外における光増感剤の濃度はできる限り低いことが望ましい。水混和性のフラーレン誘導体の体内分布を調べた報告があるが、それはフラーレンが生体内で特定分子と反応することなく、素早く体内を動き回ることを示している（S. Yamago, H. Tokuyama, E. Nakamura, K. Kikuchi, S. Kananiishi, K. Sueki, H. Nakahara, S. Enomoto, and F. Ambe, Chem. Biol., 2, 385 (1995)）。この結果は、フラーレンが水可溶化されたとしても、フラーレンの分子量が低ければ生体からの排泄が速く、それ自身に癌組織に対する特異性をもたらすような工夫をしない限り、フラーレンの癌組織へのターゲティングは達成できない。

【0006】 生体内での水溶性高分子自身の運命は、その分子量ならびに界面電気的性質に大きく依存している（例えば、生体内薬物送達学、基礎生体工学講座、橋田充、高倉喜信著、産業図書株式会社、1995など）。

この水溶性高分子の体内動態特性を利用した薬物のターゲティングがこれまでにも試みられている（例えば、M. Hashida and N. Takakura, J. Controlled Release, 31巻, p163, 1994など）。一方、癌組織と正常組織との間には解剖学的な違いのあることが知られている。すでに、分子サイズの異なるタンパク質などの高分子化合物の体内動態が担癌動物を用いて調べられ、両組織の解剖学的な違いが高分子化合物の癌組織への移行性、ならびにその組織内滞留性を向上させている原因であることが示されている（H. Maeda and Y. Matsumura, Crit. Rev. Therap. Drug Carrier Sys., 6, 193 (1989)）。従って、この高分子化合物のもつ性質をうまく利用すれば、フラーインを正常組織よりも癌組織により多く集積させ、その癌組織内滞留性を延長できると考えられる。

【0007】そこで、本発明者らは、種々の合成ならびに天然の水溶性高分子を担癌動物へ投与した後の生体内分布を調べ、その分布が分子量に強く影響されることを確認した。水溶性高分子は正常組織に比べてより多く癌組織へ集積され、一度癌組織に集積した水溶性高分子は他の組織に比較してより長く滞留した。この性質は光線力学的療法を目指したフラーインの担体として水溶性高分子が優れていることを意味している。すなわち、フラーインを水溶性高分子にて化学修飾することにより、フラーインは癌組織へ移行しやすくなるとともに、一度、集積したフラーイン-水溶性高分子結合体は癌組織に長く留まる。一方、正常組織からの結合体の消失はこれより速いことから、結合体の投与後、ある適当な時間をおけば、正常組織に対する癌組織のフラーインの濃度差はさらに大きくなり、フラーインの癌組織へのターゲティングが達成できると考えられる。このとき、フラーインの大部分はすでに体外に排泄されていることから、癌組織を光照射することにより癌組織のみを選択的に破壊できる。

【0008】アニオン性デキストラン（Y. Takakura, A. Takagi, M. Hashida, and H. Sezaki, Pharm. Res., 4, 295 (1987)）あるいはヒドロキシプロピルメタアクリレート共重合体（L. W. Seymour, Y. Miyamoto, H. Maeda, M. Beretton, J. Strohal, K. Ulbrich, and R. Duncan, Eur. J. Cancer, 31, 766 (1995)）などが癌組織に集積されやすいという報告があるが、これらは抗癌剤の癌組織へのターゲティングを目的としたものであり、癌の光線力学的治療への応用には言及していない。

【0009】

【発明が解決しようとする課題】本発明は、まず、水不

溶性のフラーインを水溶性高分子にて化学修飾することによって水可溶化すること、さらに、その結果、体内動態を変化させ、フラーインの癌組織へのターゲティングを可能とする投与剤形を提供し、フラーイン-水溶性高分子結合体を癌の光線力学的治療用光増感剤として利用しようというものである。

#### 【0010】

【課題を解決するための手段】本発明者らは上記の問題点を解決するために鋭意検討した結果、水溶性高分子を用いてフラーインを化学修飾することにより、フラーインの水可溶化と癌組織へのターゲティングが同時に可能となり、癌組織への光照射による光線力学的治療効果の発現が極めて有利となることを見出し、本発明を完成した。

【0011】以下、本発明の技術的構成を詳しく説明する。本発明のフラーイン-水溶性高分子結合体光増感剤は以下の方法によって得ることができる。フラーインを化学修飾するための水溶性高分子として、アミノ基を片末端にもつポリエチレングリコールモノアミン（以下、PEG-NH<sub>2</sub>と略す）を用いた例を挙げる。PEG-NH<sub>2</sub>とフラーインとを溶解させたベンゼン溶液を25°Cにて攪拌させ、PEG-NH<sub>2</sub>とフラーインとを化学結合させた。得られた反応生成物は凍結乾燥により回収した。

【0012】フラーインはC<sub>n</sub>（炭素）クラスター関連物質の総称である。現在、nの数によりC<sub>60</sub>およびC<sub>70</sub>などの純炭素物質、あるいは金属（あるいは金属酸化物）を内包した炭素クラスターなどの化合物が知られている（例えば、C<sub>60</sub>・フラーインの可能性、化学、50(6), 1995年など）。その中で、本発明に用いられるフラーインは、種類について特に限定されるものではないが、供給および取り扱いの容易さの点からn=60の純炭素物質C<sub>60</sub>が好ましい。

【0013】本発明に用いられる水溶性高分子としては特に限定されるものではないが、ポリエチレングリコールあるいはポリビニルアルコールなどの非荷電水溶性合成高分子、デキストラン、ブルラン、デンブン、ヒドロキシエチルあるいはヒドロキシプロピルデンブンのようなデンブン誘導体などの非荷電水溶性天然高分子など、さらにはそれらの高分子の正電荷および負電荷をもつ誘導体などが用いられる。

【0014】それらの水溶性高分子の分子量に関しても、特に限定されるものではないが、5,000から1,000,000が好ましい。

【0015】フラーインと水溶性高分子との結合は、フラーインの2重結合へのアミノ基の付加反応を利用するため、用いる水溶性高分子はアミノ基をもっていることが好ましい。アミノ基をもたない水溶性高分子を用いる場合には、まずアミノ基の導入が必要である。水酸基のみをもつ水溶性高分子の場合には、過ヨウ素酸酸化法、

塩化シアヌル法、臭化シアン法、あるいはエピクロロヒドリン法などにより水溶性高分子の水酸基と、アルキルジアミン、リジン、リジンのエステル化合物などの分子中にアミノ基を2つ以上もつアミノ化合物との間に化学結合を形成させ、高分子側鎖にアミノ基を導入する。また、カルボキシル基を有する水溶性高分子においては、N-ヒドロキシスクシンイミド・カルボジイミド、カルボジイミド、クロロ炭酸エチルなどを用いたカルボキシル基とアミノ化合物との間の結合反応によりアミノ基を高分子側鎖に導入する。アミノ基を有する水溶性高分子はそのままでフーラーんとの結合反応に用いる。水溶性高分子：フーラーんの配合モル比は水溶性高分子中のアミノ基含有率に依存するが、0.1:1から150:1の範囲であれば特に限定されるものではないが、フーラーん-水溶性高分子結合体の良好な水溶性を得る点から水溶性高分子：フーラーんは、50:1から150:1のモル配合比が好ましい。

【0016】本発明のフーラーん-水溶性高分子結合体光増感剤は水溶性であり、そのまま緩衝液、生理食塩水、注射用溶媒などの希釈剤に溶解してアッセイあるいは治療に用いることができるが、凍結乾燥後、使用時に希釈剤に溶解してから用いてよい。

【0017】本発明の光増感剤は次の優れた性質をもつ。すなわち、

- 1) フーラーんの癌組織への集積性が高い。
- 2) 投与後適当な時間をおくことにより、正常組織に対する癌組織のフーラーんの濃度差が高まる。すなわち、フーラーんの癌組織へのターゲティングが高まり、光照射による癌の光線力学的治療効果が増強される。

【0018】

【実施例】以下、実施例を挙げて本発明について詳細に説明するが、本発明は以下の実施例に限定されるものではない。

【0019】

【実施例1】水溶性高分子として、一端がメトキシ基、片末端がアミノ基であるPEG-NH<sub>2</sub>（分子量5,000、日本油脂製）を用いた。0.54mM濃度のフーラーんのベンゼン溶液10mLへ、0~108mM濃度のPEG-NH<sub>2</sub>を含む等量のベンゼン溶液を加え、25°C、24時間、遮光条件下にて攪拌し、結合反応を行った。反応終了後、反応溶液を凍結乾燥しフーラーん-PEG結合体を得た。フーラーん濃度が0.27mMとなるように結合体をベンゼンに溶解させた後、等量の蒸留水と混ぜ合わせた。48時間、25°Cにて放置し、結合体の水相への抽出操作を行い、水への移行性を調べた。水への移行性は、抽出操作を行う前後におけるベン

ゼン溶液の500nmのフーラーんの吸光度の変化を測定することにより評価した。その結果、PEG-NH<sub>2</sub>の添加量の増加とともに結合体の水相への移行性が増加し、水に不溶なフーラーんも、PEGで修飾することにより溶解性が変化し、フーラーんが水可溶性となることがわかった。フーラーんに対するPEG-NH<sub>2</sub>の添加モル比が50以上では、ほぼ100%のフーラーんが水相に移行し、フーラーんの完全に近い水可溶化が達成された。

【0020】

【実施例2】実施例1においてフーラーんに対するPEG-NH<sub>2</sub>の添加モル比が100の条件で作製したフーラーん-PEG結合体をマウス尾静脈内へ投与した後の体内分布を調べた。フーラーん-PEG結合体の放射性ラベル化は、結合体へチラミンを導入した後、クロラミンT法により放射性ヨード標識することにより行った。すなわち、0.1gのフーラーん-PEG結合体を溶解した10mLのジメチルスルホキシド溶液へ、フーラーんに対して100倍モル量のチラミンを加え、20°Cで24時間反応させた。反応後、水に対して透析、凍結乾燥によりチラミン導入フーラーん-PEG結合体を得た。フーラーん濃度として20μg/mLとなるように調製されたフーラーん-PEG結合体の0.05M濃度の塩化ナトリウムを含む0.05Mのリン酸緩衝溶液(pH7.0)100μLと200μLの0.5M濃度のリン酸緩衝溶液(pH7.5)とを混合した。この溶液中へ4μLのNa<sup>125</sup>I(3.7GBq/mL 1.1M NaOH solution, NEN Research Products社製)を加えた。0.2mg/mL濃度のクロラミンTの0.05Mリン酸緩衝溶液(pH7.2)を200μL加えた後、室温にて2分間、放射ラベル化反応を行った。次に、200μLの4mg/mL二亜硫酸ナトリウムのリン酸緩衝溶液を加えて反応を停止させた。陰イオン交換樹脂(Dowex 1-X8)を詰めたカラムに反応物を通して、ラベル化されていない<sup>125</sup>I-を分離除去した。このようにして得られた<sup>125</sup>Iラベル化フーラーん-PEG結合体をBalb/cマウス(9週齢、メス、3匹/グループ)の尾静脈内へ投与した。投与1、6、24、72および96時間後に、血液、心臓、肺、肝臓、脾臓、腎臓、胃腸管、それ以外の部位(残骸)、および尿、糞などを回収し、それぞれの臓器の放射活性をガンマカウンターにて計測した。結果を表1に示す。

【0021】

【表1】

表1 フラーレン-PEG結合体の静脈内投与後の体内分布

測定部位	放射活性率 (%)				
	1 hr	6 hr	24 hr	72 hr	96 hr
血液	16.5±1.50	7.15±1.05	1.89±0.14	0.83±0.07	0.39±0.07
心臓	0.10±0.04	0.07±0.00	0.05±0.00	0.04±ND	0.04±ND
肺	0.18±0.03	0.15±0.05	0.08±0.01	0.06±ND	0.05±ND
肝臓	3.32±0.88	5.23±0.34	6.18±0.13	2.13±0.11	1.97±0.07
脾臓	0.19±0.05	0.14±0.03	0.18±0.01	0.06±ND	0.05±ND
腎臓	2.53±0.18	2.81±0.29	2.17±0.09	1.28±0.12	1.02±0.08
胃腸管	5.65±1.75	5.15±0.90	3.03±0.89	5.23±0.07	0.95±0.08
残骸	33.6±11.5	12.0±0.79	5.67±0.60	5.24±0.37	3.22±0.68
糞尿	33.6±7.80	64.5±0.55	77.6±1.30	79.04±0.57	88.29±0.76

【0022】フラーレン-PEG結合体の特定臓器に対する集積性は見られなかった。また、結合体は血液内より速やかに消失し、投与24時間後には投与量の約78%は体外に排泄された。

#### 【0023】

【実施例3】背部皮下に癌をもつマウスを用いる以外は、実施例2と同様の方法にてフラーレン-PEG結合体を担癌マウス尾静脈内へ投与した後の体内分布を調べた。担癌マウスの作製は、 $4 \times 10^6$  個のマウス纖維肉腫細胞 (Meth A) を $50 \mu l$  のRPMI-1640培地に懸濁させ、マウス皮下に投与することにより行った。投与1週間後、皮下に直径5mm程度の腫瘍を形成したマウスを担癌マウスとして実験に用いた。結果として、臓器分布は正常マウスを用いた場合の結果と類似しており、担癌マウスにおいてもフラーレン-PEG結合体の特定臓器に対する集積性は見られず、投与24時間後には投与量の約85%が体外に排泄されていた。

#### 【0024】

【実施例4】実施例3と同様の方法にてフラーレン-PEG結合体の癌組織への集積性を調べた。125Iラベル化フラーレン-PEG結合体を背部皮下に癌をもつBalb/cマウス(9週齢、メス、3匹/グループ)の尾静脈内へ投与した。投与1、3、6、18、24、および48時間後に、癌組織、および正常部位として筋肉、皮膚を回収し、それぞれの臓器の放射活性をガンマカウンターにて計測した。結果を図1に示す。

#### 【0025】

##### 【図1】

【0026】図より明らかなように、いずれの時間において比較しても、癌組織へのフラーレン-PEG結合体の集積量は正常組織に比較して高くなっている。一方、結合体の組織内滞留性を見ると、一度集積した結合体は

正常組織に比較してより長く癌組織に留まる傾向を示した。この結果は、組織からの結合体の消失速度の違いを利用することによって、フラーレンの癌組織へのターゲティングのできることを示している。例えば、静脈内投与24時間後の結合体の皮膚あるいは筋肉などの正常組織に対する癌組織の結合体集積量の比は、それれ2.7、3.2であり、フラーレンが効率よく癌組織へターゲティングされていることがわかる。なお、実施例4で示したように、この時点では、投与された結合体の約85%は体外へ排泄されている。

#### 【0027】

【実施例5】実施例4と同様の方法にて作製した担癌マウスを用いた癌の光線力学的治療実験を行った。フラーレン濃度として $400 \mu g$ のフラーレン-PEG結合体をマウス尾静脈内へ投与した。24時間後に癌組織を光照射し、経時的にマウス皮下の腫瘍サイズを計測した。光照射に用いた装置は、白水貿易株式会社製のヘリオマット可視光線多目的照射装置である。照射光の波長は400~505nmであり、その時間を5、10、および20分間に変化させた。腫瘍サイズは腫瘍の長軸と短軸をノギスにて実測し、Winnにより報告されている計算式 (H. J. Winn, Natl. Cancer Inst. Nonogr., 2, 113 (1959)) を用いて算出した。結果を図2に示す。

#### 【0028】

##### 【図2】

【0029】光照射により癌組織サイズの増加は大きく抑制されている。また、その効果は光照射時間とともに増加し、20分照射においては腫瘍は完全に消失した。図には示していないが、結合体の投与後、光照射を行わなかったマウス群においては、その腫瘍サイズの増加パターンは未処理コントロール群と同じであった。なお、

フラーレンを結合していないPEGのみの投与、ならびに光照射のみの操作は癌の増殖には全く影響を与えたなかった。

## 【0030】

【実施例6】フラーレンの投与量を変化させる以外は、実施例5と同様にしてフラーレン-PEG結合体の癌の光線力学的治療実験を行った。フラーレンの投与量は400、200、100、および50 $\mu$ g/マウスであり、光照射時間は20分である。その結果、フラーレンの投与量に関係なく、いずれの場合にも癌組織のサイズ増加は抑制されていた。また、その癌増殖抑制効果はフラーレンの投与量の増加とともに増大した。

## 【0031】

【発明の効果】本発明によってフラーレンの水可溶化、ならびに静脈投与後にフラーレンに癌組織へのターゲティング性を付与させることができた。集積されたフラーレンの組織からの消失パターンの違いをうまく利用することにより、癌組織と正常組織とのフラーレンの濃度差を高めることができ、光照射により癌組織のみを破壊する有効な癌の光線力学的治療効果が認められた。

## 【図面の簡単な説明】

【図1】 フラーレン-PEG結合体と静脈内投与した後の組織量の時間変化を示す図である。

【図2】 フラーレン-PEG結合体の光線力学的治療効果を示す図である。

【図1】

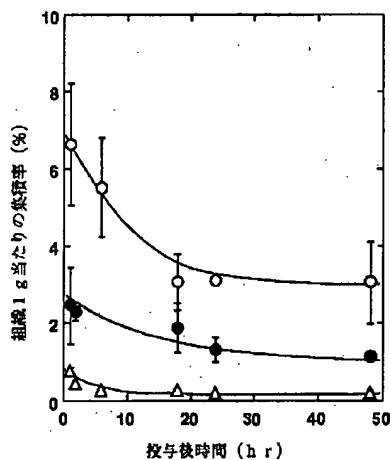


図1. フラーレン-PEG結合体と静脈内投与した後の組織量の時間変化：(○) 癌組織, (△) 皮膚, (●) 筋肉

【図2】

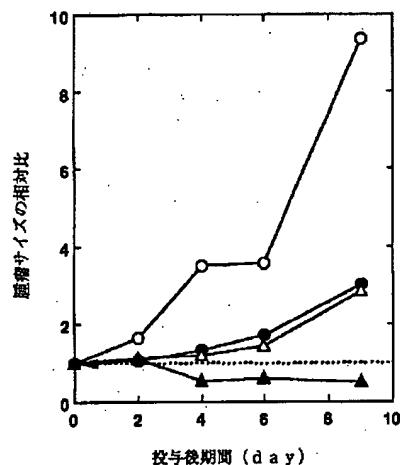


図2. フラーレン-PEG結合体の光線力学的治療効果  
光照射時間：(○) 0, (●) 5, (△) 10, (▲) 20分

**This Page is Inserted by IFW Indexing and Scanning  
Operations and is not part of the Official Record**

**BEST AVAILABLE IMAGES**

Defective images within this document are accurate representations of the original documents submitted by the applicant.

Defects in the images include but are not limited to the items checked:

- BLACK BORDERS**
- IMAGE CUT OFF AT TOP, BOTTOM OR SIDES**
- FADED TEXT OR DRAWING**
- BLURRED OR ILLEGIBLE TEXT OR DRAWING**
- SKEWED/SLANTED IMAGES**
- COLOR OR BLACK AND WHITE PHOTOGRAPHS**
- GRAY SCALE DOCUMENTS**
- LINES OR MARKS ON ORIGINAL DOCUMENT**
- REFERENCE(S) OR EXHIBIT(S) SUBMITTED ARE POOR QUALITY**
- OTHER:** \_\_\_\_\_

**IMAGES ARE BEST AVAILABLE COPY.**

**As rescanning these documents will not correct the image problems checked, please do not report these problems to the IFW Image Problem Mailbox.**